CORRIE ALLAERT VANDEVENNE
MARTA ESCOLÀ RIBES

MÉTODOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DE LOS ALIMENTOS

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

DÍAZ DE SANTOS

MÉTODOS DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

CORRIE ALLAERT VANDEVENNE
MARTA ESCOLÁ RIBES

MÉTODOS DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

© Corrie Allaert Vandevenne y Marta Escolá Ribes, 2002

Reservados todos los derechos.

«No está permitida la reproducción total o parcial de este libro, ni su tratamiento informático, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, por fotocopia, por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito de los titulares del Copyright.»

Ediciones Díaz de Santos, S. A.
Juan Bravo, 3-A. 28006 MADRID
España

E-mail: ediciones@diazdesantos.es

E-mail: ediciones@diazdesantos.es
Internet://http:www.diazdesantos.es

ISBN: 84-7978-524-1
Depósito legal: M. 23.431-2002

Fotocomposición: Fernández Ciudad, S. L.
Impresión: Fernández Ciudad, S. L.
Encuadernación: Rústica-Hilo, S. L.
Impreso en España

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

Autores

- CORRIE ALLAERT VANDEVENNE, Técnico en Microbiología (Instituto Pasteur de Lille), responsable del Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Aguas del Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Lleida, Coordinadora del Programa EQUASE (Ejercicios de Verificación Externa de Calidad) en España en colaboración con el PHLS (Public Health Laboratory Services) del UK, Representante de la Universidad de Lleida en los ejercicios interlaboratorios de validación de métodos ISO para el CEN (Comité Europeo de Normalización).
  e-mail: corrie@tecal.udl.es

- MARTA ESCOLÀ RIBES, Ingeniero Agrónomo. Este libro es una versión modificada y adaptada de su Proyecto de Fin de Carrera.

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

Agradecimientos

A Vicente Sanchis Almenar, catedrático de Microbiología de Alimentos, por su confianza y por darnos ánimos para publicar este proyecto en forma de libro.

A Robert Garrofé Forca, por su fiel y eficaz colaboración técnica para la puesta a punto de los métodos y la integración de los mismos en los sistemas de calidad del laboratorio.

A Nuria Sala Martí, profesora de Microbiología de Alimentos y Agraria, miembro de la comisión ISO/CEN en España, así como a Mercè Torres Grifo, profesora de Microbiología General e Higiene, por su colaboración en los ensayos interlaboratorios de validación y sus criticas constructivas.

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

Reflexiones

«Quedé muerto así como mineral y me convertí en planta.
Quedé muerto luego como planta y tomé una forma sensible.
Quedé muerto luego como animal, me puse atuendo humano.
¿Cuándo me hice menos por la muerte?»

RUMI

«La vida... una profundidad viva de equilibrios, siempre en movimiento y fusión, de tensio-

nes y desahogos, en la constante transformación de creación y destrucción.»

EDWARD C. WHITMONT

«As microbiologists, dealing with living organisms, we should probably have learned by now to always expect the unexpected.»

SHEILA EATON, Responsable de la Organización de EQUAL del PHLS.

Es la conclusión de más de 10 años de ejercicios interlaboratorios para Verificación Externa de Calidad.

«De luz y de sombra soy, quiero darme a las dos.»

GABRIEL Y GALÁN

VOOR BOY EN SOR

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN XIX

CAPÍTULO PRIMERO

PROCEDIMIENTO GENERAL DE REDACCIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS (PNT - AL- 001) 1

CAPÍTULO SEGUNDO

PROCEDIMIENTO DE EXPRESIÓN DE RESULTADOS (PNT - AL - 002) 9

Tablas de resultados 16
Anexo 1: Tablas de límites de confianza 42
Anexo 2: Ejemplos 46
Recuento en medio sólido sin identificación: Ejemplos 1 al 12 47
Recuento en medio sólido después de identificación: Ejemplos 13 al 26 51
Recuento en medio líquido: Ejemplos 27 al 31 58

CAPÍTULO TERCERO

PROCEDIMIENTOS DE MÉTODOS DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS 61

PNT - AL - 003: Método horizontal para el recuento de microorganismos a 30°C (método de referencia) 62
PNT - AL - 004: Método horizontal para el recuento de microorganismos a 30°C (método de rutina) 64
PNT - AL - 005: Método horizontal para el recuento de levaduras y mohos (método de referencia) 66
PNT - AL - 006: Método horizontal para el recuento de levaduras y mohos (método de rutina) 68
PNT - AL - 007.1: Método horizontal para el recuento sin revivificación de Enterobacteriaceae. Técnica del NMP (método de referencia) 70
PNT - AL - 007.2: Método horizontal para el recuento sin revivificación de Enterobacteriaceae. Técnica por recuento de colonias (método de referencia) 72
PNT - AL - 008: Método horizontal para la investigación de Enterobacteriaceae con preenriquecimiento (método de referencia) 75

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

PNT - AL - 009: Método horizontal para el recuento sin revivificación de Enterobacteriaceae. Técnica por recuento de colonias (método de rutina) 77
PNT - AL - 010: Método horizontal para el recuento de coliformes totales. Técnica del NMP (método de referencia) 80
PNT - AL - 011: Método horizontal para el recuento de coliformes totales. Técnica por recuento de colonias (método de referencia) 82
PNT - AL - 012: Método horizontal para el recuento de coliformes totales (método de rutina) 84
PNT - AL - 013: Método horizontal para el recuento de *Escherichia coli* presuntivos. Técnica del NMP (método de referencia) 86
PNT - AL - 014: Método horizontal para el recuento de *Escherichia coli* β-glucuronidasa positivos (método de rutina) 88
PNT - AL - 015.1: Método horizontal para el recuento de estafilococos coagulasa positivos (CPS) con confirmación. Técnica por recuento de colonias (método de refe-

rencia) 90
PNT - AL - 015.2: Método horizontal para el recuento de estafilococos coagulasa positivos (CPS) sin confirmación. Técnica por recuento de colonias (método de referencia) 93
PNT - AL - 016.1: Método horizontal para el recuento de estafilococos coagulasa positivos (CPS). Técnica con confirmación de colonias (método de rutina) 95
PNT - AL - 016.2: Método horizontal para el recuento de estafilococos coagulasa positivos (CPS). Técnica sin confirmación de colonias (método de rutina) 98
PNT - AL - 017: Método horizontal para el recuento de *Bacillus cereus* (método de referencia) 100
PNT - AL - 018: Método horizontal para el recuento de *Bacillus cereus* (método de rutina). 103
PNT - AL - 019: Método horizontal para el recuento de *Clostridium perfringens* (método de referencia) 106
PNT - AL - 020: Método horizontal para el recuento de *Clostridium perfringens* (método de rutina) 109
PNT - AL - 021: Método horizontal para la investigación de *Salmonella* (método de referencia) 112
PNT - AL - 022: Método horizontal para la investigación de *Salmonella* (método de rutina) 118
PNT - AL - 023.1: Método horizontal para la investigación de *Listeria monocytogenes* (método de referencia) 123
PNT - AL - 023.2: Método horizontal para el recuento de *Listeria monocytogenes* (método de referencia) 127
PNT - AL - 024: Método horizontal para la investigación de *Listeria monocytogenes* (método de rutina) 131
PNT - AL - 025: Método horizontal para la investigación de *Campylobacter* termotolerantes (método de rutina) 135

CAPÍTULO CUARTO

PROCEDIMIENTO GENERAL DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO (PNT - ME - 001) 143

CAPÍTULO QUINTO

PROCEDIMIENTO GENERAL DE CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO (PNT - ME - 002) 149

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

CAPÍTULO SEXTO

PROCEDIMIENTOS DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO 151

Relación de medios de cultivo y PNT - AL en el que aparecen 153
PNT - ME - 003: Procedimiento para la preparación de la peptona salina (PS) 155
PNT - ME - 004: Procedimiento para la preparación del agar para recuento (PCA) 156
PNT - ME - 005: Procedimiento para la preparación del agar blanco (AB) 157
PNT - ME - 006: Procedimiento para la preparación del agar glucosa y cloranfenicol

(CGA) 158
PNT - ME - 007: Procedimiento para la preparación del caldo tamponado con bilis, verde brillante y glucosa (caldo EE) 159
PNT - ME - 008: Procedimiento para la preparación del agar bilis cristal violeta y glucosa (VRBG) 160
PNT - ME - 009: Procedimiento para la preparación del agar glucosado (AG) 161
PNT - ME - 010: Procedimiento para la preparación del agar nutritivo (AN) 162
PNT - ME - 011: Procedimiento para la preparación del caldo nutritivo (CN) 163
PNT - ME - 012: Procedimiento para la preparación del agua de peptona tamponada (APT) 164
PNT - ME - 013: Procedimiento para la preparación del caldo de triptona lauril sulfato (TSL) 165
PNT - ME - 014: Procedimiento para la preparación del caldo lactosado biliado verde brillante (BGBL) 166
PNT - ME - 015: Procedimiento para la preparación del agar lactosado con bilis al cristal violeta y rojo neutro (VRBL) 167
PNT - ME - 016: Procedimiento para la preparación del caldo *Escherichia coli* (caldo EC).. 168
PNT - ME - 017: Procedimiento para la preparación del agua de triptona (AT) 169
PNT - ME - 018: Procedimiento para la preparación del agar con tergitol-BCIG (PTX) . 170
PNT - ME - 019: Procedimiento para la preparación del medio de Baird-Parker (BP) 171
PNT - ME - 020: Procedimiento para la preparación del caldo de cerebro-corazón (BHI) 172
PNT - ME - 021: Procedimiento para la preparación del agar con plasma de conejo y fibrinógeno (RPF) 173
PNT - ME - 022: Procedimiento para la preparación del agar manitol yema de huevo con polimixina (MYPA) 174
PNT - ME - 023: Procedimiento para la preparación del medio Voges-Proskauer (MR-VP) 175
PNT - ME - 024: Procedimiento para la preparación del medio nitrato (MN) 176
PNT - ME - 025: Procedimiento para la preparación del agar sangre (AS) 177
PNT - ME - 026: Procedimiento para la preparación del agar movilidad (AM) 178
PNT - ME - 027: Procedimiento para la preparación del agar triptona-sulfito con ciclosetina (TSC) 179
PNT - ME - 028: Procedimiento para la preparación del tioglicolato (TIO) 180
PNT - ME - 029: Procedimiento para la preparación del medio lactosa sulfito (LS) 181
PNT - ME - 030: Procedimiento para la preparación del caldo con verde de malaquita y cloruro de magnesio (Rappaport-Vasiliadis modificado) (RV) 182
PNT - ME - 031: Procedimiento para la preparación del caldo selenito-cistina (SC) 183
PNT - ME - 032: Procedimiento para la preparación del agar rojo fenol y verde brillante (BGA) 184
PNT - ME - 033: Procedimiento para la preparación del medio Hektoen (HK) 185
PNT - ME - 034: Procedimiento para la preparación del agar Kligler 187
PNT - ME - 035: Procedimiento para la preparación del agar nutritivo semisólido (ANS) ... 188
PNT - ME - 036: Procedimiento para la preparación del caldo Fraser semi (FS) 189
PNT - ME - 037: Procedimiento para la preparación del caldo Fraser completo (FC) 190

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

PNT - ME - 038: Procedimiento para la preparación del agar Oxford 191
PNT - ME - 039: Procedimiento para la preparación del agar Palcam 192
PNT - ME - 040: Procedimiento para la preparación del agar triptona de soja-extracto de levadura (TSYEA) 194

PNT - ME - 041: Procedimiento para la preparación del caldo para la utilización de los glúcidos (ramnosa y xilosa) 195
PNT - ME - 042: Procedimiento para la preparación del caldo de Park y Sanders 196
PNT - ME - 043: Procedimiento para la preparación del agar de Karmali (AK) 197
PNT - ME - 044: Procedimiento para la preparación del agar Butzler modificado 199
PNT - ME - 045: Procedimiento para la preparación del caldo de Brucella (CB) 200
PNT - ME - 046: Procedimiento para la preparación del agar de sangre Columbia 201
PNT - ME - 047: Procedimiento para la preparación del agar de sangre Mueller-Hinton 202
PNT - ME - 048: Procedimiento para la preparación del agar citrato de hierro tres azúcares (TSI) 203
PNT - ME - 049: Procedimiento para la preparación del caldo triptona de soja (TSB) 205

CAPÍTULO SÉPTIMO

PROCEDIMIENTO GENERAL DE PREPARACIÓN DE REACTIVOS (PNT - RE - 001) 209

CAPÍTULO OCTAVO

PROCEDIMIENTO GENERAL DE CONTROL DE CALIDAD DE REACTIVOS (PNT - RE - 002) 215

CAPÍTULO NOVENO

PROCEDIMIENTOS DE PREPARACIÓN DE REACTIVOS 217

Relación de reactivos y medio al que se añaden 219
PNT - RE - 003: Procedimiento para la preparación del suplemento antimicrobiano de gentamicina 220
PNT - RE - 004: Procedimiento para la preparación de la solución estéril de yema de huevo 221
PNT - RE - 005: Procedimiento para la preparación del telurito potásico al 1% 222
PNT - RE - 006: Procedimiento para la preparación de la sulfametacina al 0,2% 223
PNT - RE - 007: Procedimiento para la preparación del sulfato de polimixina B al 4% ... 224
PNT - RE - 008: Procedimiento para la preparación del rojo de metilo 225
PNT - RE - 009: Procedimiento para la preparación de la solución de α-naftol 226
PNT - RE - 010: Procedimiento para la preparación de la solución de KOH al 40% 227
PNT - RE - 011: Procedimiento para la preparación del reactivo de nitratos 228
PNT - RE - 012: Procedimiento para la preparación del metabisulfito sódico al 1,2% 229
PNT - RE - 013: Procedimiento para la preparación del citrato férrico amoniacal al 1% 230
PNT - RE - 014: Procedimiento para la preparación del suplemento selectivo para el caldo Fraser semi 231
PNT - RE - 015: Procedimiento para la preparación del suplemento selectivo para el caldo Fraser completo 232
PNT - RE - 016: Procedimiento para la preparación del suplemento selectivo para el agar Oxford 233

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

PNT - RE - 017: Procedimiento para la preparación del suplemento selectivo para el agar Palcam 234
PNT - RE - 018: Procedimiento para la preparación de la solución de antibióticos «A» para el caldo de Park y Sanders 235
PNT - RE - 019: Procedimiento para la preparación de la solución de antibióticos «B» para el caldo de Park y Sanders 236
PNT - RE - 020: Procedimiento para la preparación del suplemento selectivo para el agar de Karmali 237
PNT - RE - 021: Procedimiento para la preparación del suplemento selectivo para el agar Butzler 238
PNT - RE - 022: Procedimiento para la preparación del reactivo de Kovacs 239
PNT - RE - 023: Procedimiento para la preparación de la solución salina (SS) 240
PNT - RE - 024: Procedimiento para la preparación del reactivo para la investigación de la β-galactosidasa (ONPG) 241
PNT - RE - 025: Procedimiento para la preparación de la solución de fenilalanina al 0,5% (FA) 242
PNT - RE - 026: Procedimiento para la preparación de la solución de cloruro férrico al 10% 243

BIBLIOGRAFÍA GENERAL 245
NORMATIVA 247

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

INTRODUCCIÓN

El presente libro va dirigido a los profesionales y estudiantes de Microbiología del sector agro-alimentario en el control de las materias primas y los productos terminados, a los laboratorios de análisis de alimentos, a los técnicos de laboratorio, a las Universidades que realizan prácticas de microbiología de alimentos y de control de calidad.

Para aplicar los métodos aquí descritos se requiere que el laboratorio disponga del material y equipos corrientes en un laboratorio de microbiología de alimentos. Este material estará debidamente calibrado, verificado y mantenido en optimas condiciones de funcionamiento según procedimientos propios del sistema de calidad de cada laboratorio y adaptado a la norma ISO 7218 (Reglas Generales para los ensayos microbiológicos). Además, cada método puede precisar algún material o equipo especifico.

La implantación de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) y Aseguramiento de la Calidad obliga a normalizar todas las operaciones que se realizan en el laboratorio. Por ello se han redactado una serie de procedimientos e instrucciones de trabajo con el fin de dar uniformidad y consistencia a los análisis de alimentos que se realizan en los laboratorios de microbiología y reducir los riesgos de error por parte de las personas que realizan el ensayo.

Dado que la finalidad de trabajar con BPL es la obtención de resultados analíticos de calidad y conseguir la aceptación mutua de estos resultados entre los diferentes países, tenemos que seguirlas escrupulosamente.

La elaboración de estos documentos viene dada por la necesidad de tener un sistema unificado de funcionamiento y gestión de los laboratorios, ya que hace falta asegurar la calidad e integridad de los resultados y datos obtenidos en los análisis, y establecer esquemas de funcionamiento equivalentes entre laboratorios.

Así, se ha realizado una homogeneización de los métodos de análisis de alimentos, unificando sus características en base a las normas internacionales correspondientes (ISO: International Standard Organisation; EN: European Norme; NF: Norme Française; AFNOR: Association Française de Normalisation). Junto con ellos se han redactado los procedimientos de preparación de los medios de cultivo y reactivos necesarios para realizar los ensayos, de manera que hay una explicación de cada uno de los aspectos de los procedimientos de análisis.

Los resultados de los análisis son el producto final del trabajo del laboratorio, de manera que se ha de obtener un resultado fiable, lo cual es el principal objetivo de to-

dos los sistemas de calidad. A causa de la complejidad de la norma de expresión de re-

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

sultados, en el apartado correspondiente de los PNT - AL (métodos) únicamente se expone el caso general y se ha redactado un procedimiento (PNT - AL - 002) que explica detalladamente la manera de expresar los resultados en cada posible caso. En este PNT se expone en unas tablas la forma de obtener y expresar el resultado del análisis para cada PNT - AL. Además en este procedimiento hay ejemplos de casos prácticos que ayudan a la aplicación de las fórmulas.

Los métodos ISO (2 placas por dilución, confirmación de 5 colonias) suelen utilizarse como métodos de referencia y los métodos NF (1 placa por dilución, confirmación de 3 colonias) se suelen emplear como métodos de rutina, siendo los dos métodos normalizados.

Con el objetivo de uniformizar todos los procedimientos del laboratorio, se han redactado unos Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT) que dan las instrucciones para la redacción de todos estos documentos, tanto de métodos de análisis de alimentos (PNT - AL - 001) como los de preparación y control de calidad de los medios de cultivo (PNT - ME - 001 y PNT - ME - 002) y reactivos (PNT - RE - 001 y PNT - RE - 002) necesarios para ellos.

Los *Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT)* son un conjunto de instrucciones escritas de obligado y riguroso cumplimiento que describen cómo deben realizarse determinados métodos de ensayo, cómo deben manejarse los equipos de análisis o cómo se debe proceder ante cualquier otra actividad del laboratorio.

La preparación de algunos medios de cultivo (PNT - ME) o reactivos (PNT - RE) es específica de una marca comercial. Antes de aplicarlos habrá que comprobar la composición del medio o reactivo usado en el laboratorio y adaptarlo a las instrucciones del proveedor o de la norma original.

La normalización es un proceso continuo de mejoría en los análisis, y aunque los cambios sean lentos, debido al proceso de elaboración de normas internacionales, pasado algunos años es aconsejable comprobar que la norma en la que se basa el PNT no haya sufrido modificaciones.

En el momento de la redacción del libro, algún método ya había salido con pequeños cambios, como por ejemplo el de recuento de enterobacterias, método en el cual se suprime la confirmación de colonias. Pero la experiencia demuestra que esta confirmación es muy útil a la hora de evitar falsos positivos en según qué productos. Así que hemos dejado la confirmación, ya que siempre es más fácil quitar pasos que no añadir.

Las normas ISO, EN, NF, AENOR (Asociación Española de Normalización) se van elaborando y revisando de manera continua. Como este proceso suele ser bastante largo, es aconsejable consultar las siguientes páginas web:

- ISO: *http://www.iso.ch*
- EN: *http://www.cenorm.be*
- AFNOR: *http://www.afnor.fr*
- AENOR: *http://www.aenor.es*

Últimamente se está realizando la validación de los métodos ISO para el CEN (Comité Europeo de Normalización), y como consecuencia se incluirán en las normas los datos de precisión (expresados en repetibilidad y reproducibilidad) definidos durante los ensayos interlaboratorios. Por este motivo, las normas de reciente publicación incluyen en la expresión de resultados el apartado «Precisión». Las demás normas se remiten a una norma general, la ISO 7218.

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

El año 2000 vio la aparición de la norma ISO 17025 *Prescripciones generales para la competencia de los laboratorios de calibración y ensayos*. Esta norma es el resultado de un intento de armonización entre los diferentes documentos existentes, como la Guía ISO 25, la norma EN 45001 y las ISO 9000.

Los cambios a destacar son los que hacen hincapié en la relación laboratorio/cliente, teniendo en cuenta la información que busca el cliente y para qué quiere esta información. En el caso de los ensayos, el método empleado para dar esta información es fundamental, así como características como la precisión en términos de repetibilidad y reproducibilidad, incertidumbres y validación.

En una nota se explica que para validar métodos conviene emplear una combinación de las siguientes técnicas:

- Utilización de material de referencia.
- Comparación de los resultados con los obtenidos con otros métodos.
- Comparaciones interlaboratorios (ejercicios de verificación externa de calidad).
- Evaluación sistemática de los factores que puedan afectar a los resultados.
- Evaluación de las incertidumbres en base a principios teóricos y conocimiento práctico del método.

Mediante las incertidumbres (material de referencia empleado, métodos y equipos, condiciones ambientales, propiedades y condiciones del objeto sometido a análisis, el técnico, etc.) y los límites de confianza del método, se presenta ahora un resultado, no como un valor único, pero como un conjunto de valores numéricos, todos ellos probables. Hay que destacar que la palabra *incertidumbre* sale 34 veces en esta nueva norma.

Con los métodos que presentamos en este libro se persigue obtener un sistema de trabajo cuyo objetivo es agilizar y facilitar las operaciones del laboratorio, al tener a mano y desglosadas por pasos todas las operaciones a seguir para realizar el análisis, asegurando al mismo tiempo que éstas se realizan correctamente.

Los esquemas; en color, son un fiel reflejo de los medios de cultivo y de todas las reacciones bioquímicas que en ellos se producen; de esta manera; ayudarán a las personas que se inician en estos métodos; al reflejar las características del medio y de las colonias que crecen en él. Así; se puede saber rápidamente si el medio que se ha de utilizar se necesita en frascos, en tubos (con o sin campana) o en placas, conocer su color original y observar los cambios que sufre en el proceso. Respecto a las colonias, al estar dibujadas con su color, textura y halo, se puede comprobar si su crecimiento es el correcto.

Así, estos PNT son unas guías de trabajo muy útiles a la hora de iniciar y seguir los

análisis.

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

CAPÍTULO PRIMERO

Procedimiento general de redacción de métodos de análisis de alimentos (PNT - AL - 001)

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

1. OBJETO

El presente documento tiene como finalidad normalizar y homogeneizar la redacción de los procedimientos de análisis de alimentos.

2. ÁMBITO DE APLICACIÓN

Se aplica a todos los análisis realizados según los PNT - AL.

3. REFERENCIAS

- ISO 7218 (1996): Microbiología de Alimentos. Reglas generales para los exámenes microbiológicos.
- Normas ISO, EN y AFNOR en las que se basan los PNT - AL.
- Manual de Calidad del Laboratorio de Microbiología.
- Procedimiento General de Redacción de Documentos.
- Guías ENAC y ISO 17025.

4. METODOLOGÍA

1. Recopilar la documentación existente (normas internacionales: ISO, EN, AFNOR, CNAN, etc., PNT del propio laboratorio, artículos en revistas especializadas...) y la do-

CNAN, etc., PNT del propio laboratorio, artículos en revistas especializadas...) y la documentación en proyecto sobre el procedimiento que queremos redactar.
2. Estudiar el modo operativo del laboratorio para el cual se realiza el documento.
3. Adaptar el Procedimiento General de Redacción de Documentos a este documento.

5. PROCEDIMIENTO

Los PNT realizados según el presente documento son instrucciones de trabajo para facilitar y agilizar el análisis en el laboratorio, de manera que presentan una forma esquematizada de realizar los ensayos. Por consiguiente, en caso de necesitar más detalles, se deberá acudir a la documentación original (norma en la que se basan).

Estos procedimientos de métodos de análisis de alimentos están formados por dos partes bien diferenciadas:

- Instrucciones de trabajo
- Esquema del proceso.

Estos procedimientos constan de los siguientes apartados:

0. Carátula.
1. Definición.
2. Medios de cultivo.

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

3. Reactivos.
4. Siembra.
5. Recuento (en caso que se realice).
6. Confirmación (en caso que se realice).
7. Expresión de resultados.
8. Esquema.

5.1. Carátula

La carátula debe encabezar cada una de las páginas del PNT y ha de incluir los siguientes apartados:

- Título del PNT.
- Tipo y número del PNT.
- Norma en la que se basa.
- Número de página.

5.1.1. *Título del PNT*

En este apartado deberá constar:

- Tipo de análisis que se realiza: recuento o investigación, especificando si se utiliza alguna técnica en particular (sin/con revivificación/pre-enriquecimiento, por recuento de colonias,

por número más probable...).

- El microorganismo o grupo de microorganismos que se estudia.

NOTA 1: Los nombres científicos de microorganismos, en latín, deben escribirse en cursiva, con letras minúsculas y la inicial en mayúscula (por ejemplo *Salmonella*), mientras que los nombres de las familias, también en latín, se escribirán del mismo modo pero sin cursiva (por ejemplo Enterobacteriaceae).

Para homogeneizar los distintos títulos que aparecen en la documentación (método de referencia, método de rutina, directiva general...) se ha optado por nombrar como MÉTODO HORIZONTAL, que es la denominación que se aplica como título en las nuevas normas internacionales. Con esta denominación indicamos que los métodos se aplican a todo tipo de productos, salvo raras excepciones; estos casos particulares estarán indicados en los PNT sobre preparación de la porción analítica y diluciones decimales y son específicos de cada laboratorio.

De esta manera, los métodos de referencia y de rutina se distinguen según la norma en la cual están basados (los métodos de referencia se basan en normas ISO/EN y los de rutina en normas AFNOR).

Asimismo, también se ha unificado el nombre del tipo de análisis, sustituyendo ENUMERACIÓN por RECUENTO.

5.1.2. *Tipo y número del PNT*

En el caso que nos ocupa, el número del documento vendrá precedido por las siglas PNT - AL, en referencia a su condición de procedimiento normalizado de análisis de alimentos, seguidas de un número de tres cifras (por ejemplo, PNT - AL - 011).

En determinados análisis, por ejemplo, cuando se realiza un recuento del mismo microorganismo por dos técnicas distintas, el PNT se divide en dos partes. Este hecho se indicará en la

http://ingenieriaytecnologiadealimentos.blogspot.com

numeración, de manera que junto al número de tres cifras seguirá un punto «.» y el número «1» o «2», según corresponda (por ejemplo, PNT - AL - 017.1).

NOTA 2: Este desdoblamiento se suele manifestar también en la norma original.

5.1.3. *Norma en la que se basa*

Dado que estos PNT son una adaptación de las normas correspondientes, según el método de trabajo del laboratorio y, por tanto, se han hecho ciertos cambios en ellas, no se puede decir que se han resumido sino que, basándose en ellas, para asegurar que los ensayos se realizan correctamente, se ha esquematizado el proceso en función de su uso en el lugar de trabajo. Estos cambios, en ningún caso son sustanciales.

Así pues, en la carátula debe figurar «BASADO EN» la norma ISO/EN (para métodos de referencia) o AFNOR (para métodos de rutina) correspondiente al ensayo, indicando su número y la fecha de edición (mes y año).

5.2. Definición